УДК: 619:616:615.371:636.52/.58

Д.Л. Долгов, В.В. Борисов, А.В. Борисов, С.В. Фролов

ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ ГУМОРАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ВИРУСАМ НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ И РВТ У КУР, ПРИВИТЫХ АССОЦИИРОВАННОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНОЙ

Введение

В настоящее время для профилактики вирусных болезней на птицефабриках, наряду с общими ветеринарно-санитарными мероприятиями, широко применяется иммунизация с использованием живых и инактивированных препаратов. На данный момент во многих птицехозяйствах России наиболее часто проводят профилактическую вакцинацию против таких возбудителей вирусных заболеваний, как ньюкаслская болезнь (НБ), инфекционный бронхит кур (ИБК), синдром снижения яйценоскости-76 (ССЯ-76), инфекционная бурсальная болезнь (ИББ), реовирусный теносиновит (РВТ) [2, 3, 5].

Мировой опыт профилактики инфекционных болезней доказал целесообразность применения в промышленном птицеводстве инактивированных вакцин с комбинацией нескольких вирусных антигенов. Основным преимуществом комплексных противовирусных инактивированных вакцин, применяемых в сочетании с живыми препаратами, является создание у привитого поголовья более напряженного и продолжительного иммунитета, а также продление сроков пассивной защиты у потомства, полученного от родителей, иммунизированных комплексными вакцинами. При этом также снижаются воздействие стрессовых факторов на птиц и трудозатраты, связанные с проведением иммунизации моновалентными препаратами [6, 9].

При разработке ассоциированных вакцин значительное место занимает изучение антигенной активности компонентов, входящих в состав таких вакцин. Часто при использовании поливалентных вакцин антигенная активность некоторых компонентов снижается по сравнению с моновариантными формами вакцин [4, 7, 8]. Поэтому цель настоящей работы – изучение динамики и уровня образования специфических гуморальных антител к антигенам НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ и РВТ, входящим в состав ассоциированной инактивированной вакцины. При этом важно было определить, насколько существенное влияние оказывает пятикратное разведение вирусного антигена в составе пятивалентной вакцины по сравнению с более концентрированным антигеном в вакцинном препарате, использующимся в качестве контроля.

Материалы и методы

Изготовление экспериментальных образцов ассоциированных инактивированных вакцин против НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ и РВТ. Изготавливали экспериментальные образцы биопрепаратов, имеющих разную кратность разведения соответствующих антигенов вирусов. В соответствии с принятой технологией изготовления инактивированных эмульсионных вакцин максимальное содержание антигенсодержащего материала в вакцине (D) составляло 30% (т.е. D=0,300). Основной экспериментальный образец вакцины имел в своем составе равные объемы антигенов вирусов НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ и РВТ, таким образом, кратность разведения антигенов этих вирусов составила 1/5 (D=0,06) указанной концентрации. Кроме этого, для сравнительного изучения динамики формирования и уровня гуморальных антител в качестве контрольных были приготовлены препараты с различными объемными соотношениями для разных антигенов вирусов. Для антигенов вирусов ИБК, ИББ и РВТ были приготовлены составы, включающие 1/2 (D=0,15), а для антигенов вирусов НБ и ССЯ-76 – 1/6 (D=0,05) указанной концентрации.

Определение антигенной активности экспериментальных образцов ассоциированных инактивированных вакцин против НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ и РВТ. В экспериментах использовали неиммунных к вирусам НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ и РВТ цыплят в возрасте 28 суток. Подопытные группы состояли из 5 голов цыплят. Вакцину вводили внутримышечно в объеме 1,0 $см^3$. Через 14, 21 и 28 суток после прививки у вакцинированных и контрольных цыплят в РТГА (выявляли антигемагглютинины к вирусам НБ и ССЯ-76) и ИФА (выявляли антитела к вирусам ИБК, ИББ и РВТ) исследовали сыворотки крови.

Изучение динамики формирования и

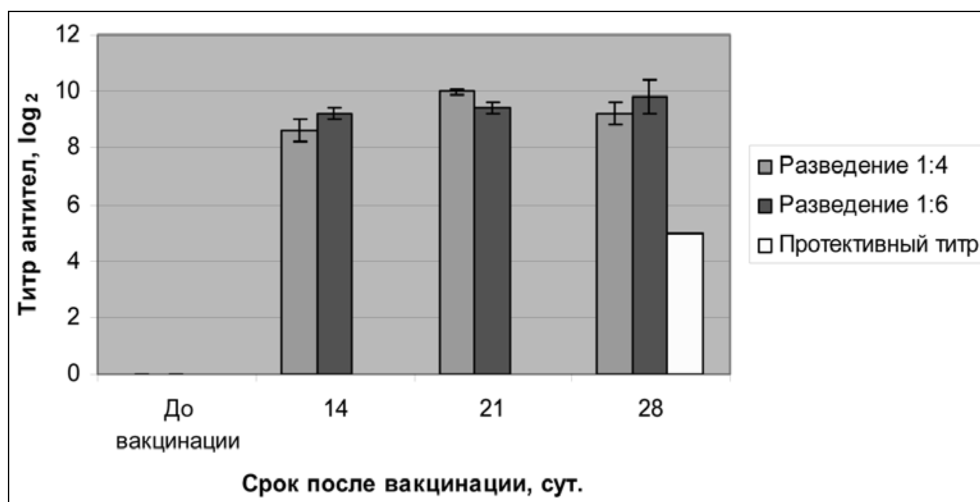


Рис. 1. Средние значения уровня антител к вирусу НБ в РТГА (log2) по группам кур в разные сроки после вакцинации

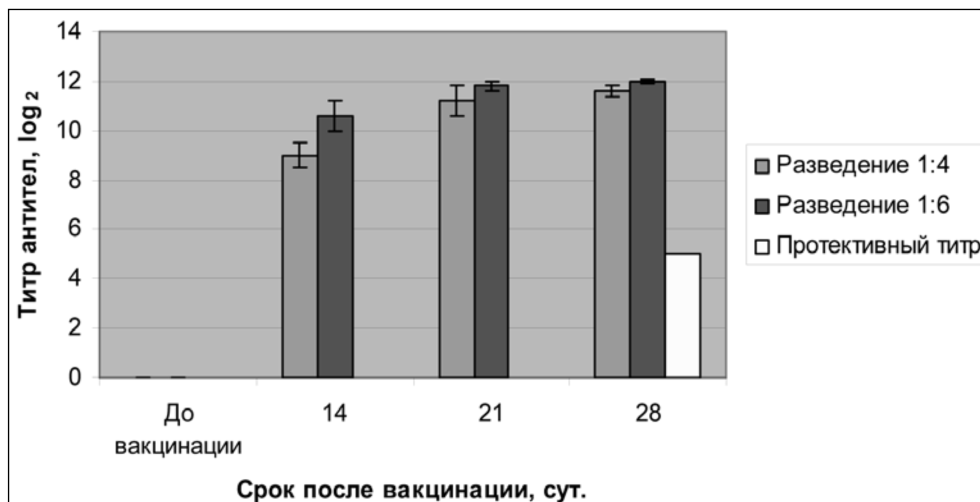


Рис. 2. Средние значения уровня антител к вирусу ССЯ-76 в РТГА (log2) по группам в разные сроки после вакцинации

уровня гуморальных антител к антигенам вирусов НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ и РВТ в составе ассоциированной инактивированной вакцины. Сравнивали титры гуморальных антител к вакцинам с разной кратностью разведений антигенов и оценивали динамику их формирования через 14, 21 и 28 сут. наблюдения с помощью построенных диаграмм и проводили статистические расчеты [1, 10]. Исследовали связь между показателями времени исследования крови (t) и средним титром сывороток в группе (Tser) для вирусов с разной кратностью разведения. Производили построения соответствующих регрессионных моделей, с определением расчетного титра антител и его стандартной ошибки, после чего производили сравнение двух статистических совокупностей.

Результаты и обсуждение

Целью опыта было определение взаимного влияния антигенов при введении цыплятам в составе поливалентной инактивированной вакцины на динамику и уровень формирования специфических гуморальных антител. При этом важно было определить, насколько существенное влияние оказывает пятикратное разведение вирусного антигена в составе ассоциированной вакцины (D=0,06), по сравнению с менее разведенным антигеном в контрольном препарате (для вирусов ИБК, ИББ и РВТ разведение было двукратным (D=0,15), а для вирусов НБ и

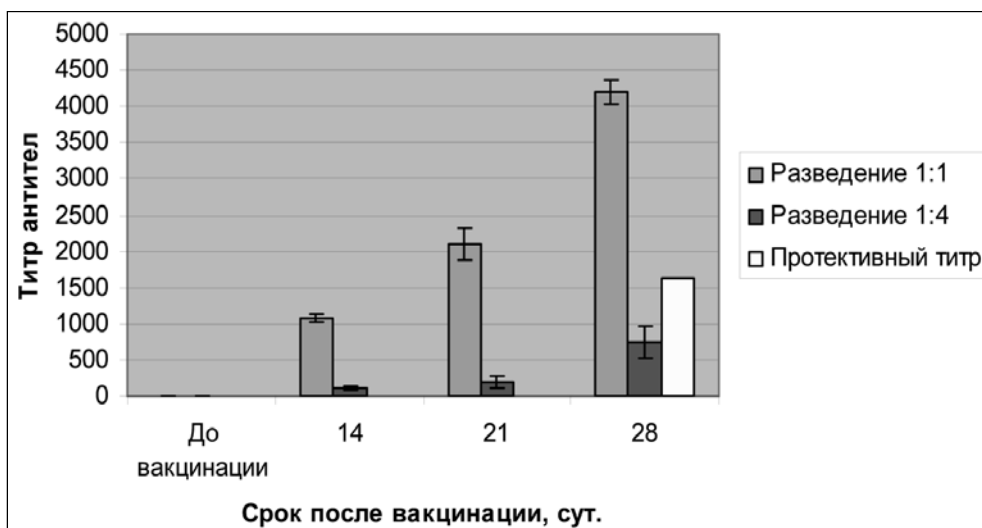


Рис. 3. Средние значения уровня антител к вирусу ИБК в ИФА по группам в разные сроки после вакцинации

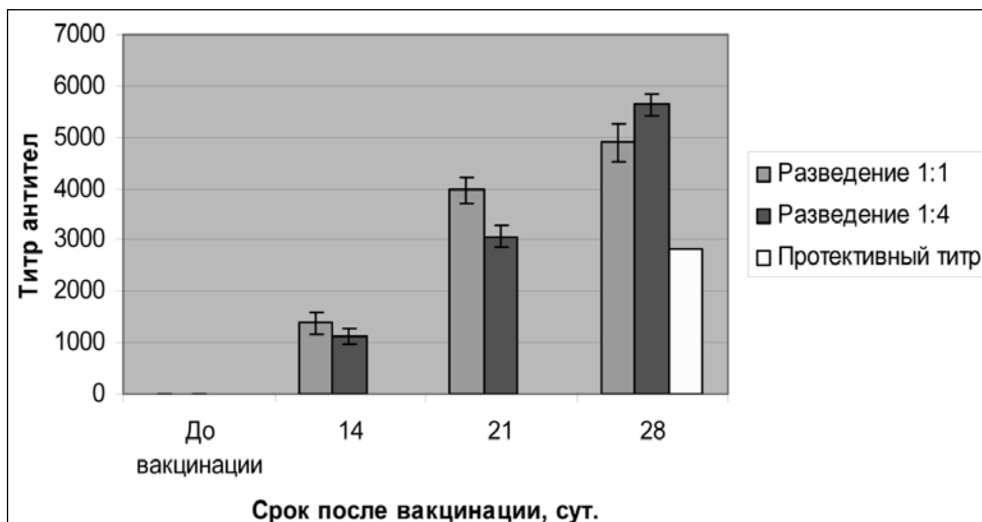


Рис. 4. Средние значения титров антител к вирусу ИББ в ИФА по группам в разные сроки после вакцинации

ССЯ – шестикратным (D=0,05)).

На рис.1, 2, 3, 4 и 5 в графическом виде представлены сравнительные данные по динамике формирования уровня гуморальных антител к антигенным компонентам, входящим в состав инактивированной ассоциированной вакцины.

Как видно на рис. 1, через 14 сут. после вакцинации серонегативных птиц титр антител к компоненту НБ в разведении 1:4 и 1:6 составлял 8,6±0,4 и 9,2±0,2 $\log_2$, соответственно. К 21 сут. эти величины выросли незначительно и равнялись 10,0±0,1 и 9,4±0,2 $\log_2$, а на 28 сут. оставались на прежнем уровне – 9,2±0,4 и 9,8±0,6 $\log_2$, что значительно превосходит минимальный защитный титр к вирусу НБ – 5,0 $\log_2$. Можно отметить также, что различия в титрах антител между двумя группами птицы на протяжении всего срока наблюдений (28 сут.) были несущественными.

Подобную картину можно наблюдать на рис. 2. Титр антител у серонегативных птиц к вирусу ССЯ-76 в разведениях 1:4 и 1:6 через 14 сут. после вакцинации составлял 9,0±0,5 и 10,6±0,6 $\log_2$, соответственно. Через 21 сут. после иммунизации титр антител был на уровне 11,2±0,6 и 11,8±0,2 $\log_2$, и далее, к 28 сут., сохранялся в тех же значениях – 11,6±0,2 и 12,0±0,1 $\log_2$, что

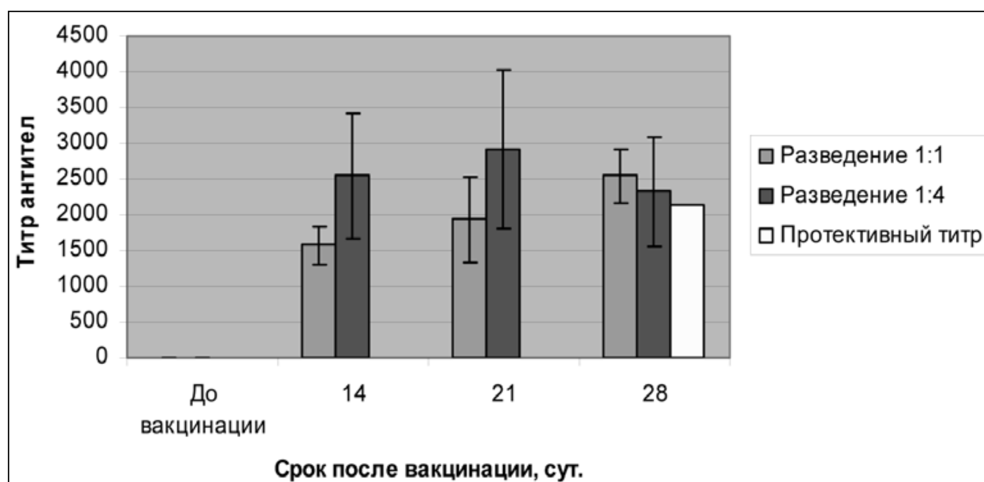


Рис. 5. Средние значения уровня антител к вирусу РВТ в ИФА по группам в разные сроки после вакцинации

превышает требуемый минимальный титр антител к вирусу ССЯ-76 – 5,0 $\log_2$. В этом случае мы также наблюдаем, что различия в титрах антител между двумя разными группами птиц незначительные.

На рис. 3 в двух группах серонегативной птицы отмечался постепенный рост уровня антител к вирусу ИБК в разведениях 1:1 и 1:4 в течение всего срока наблюдения. Так, через 14 сут. после вакцинации титры к этим разведениям составляли в ИФА 1071±58 и 122±27, соответственно, через 21 сут. эти величины составляли 2108±221 и 202±84, а через 28 сут. – 4196±164 и 755±221. Из представленных на рисунке данных видно, что рост титров антител к вирусу ИБК в разведении 1:4 был незначительным, их уровень был весьма низок в течение всего срока наблюдения и на 28 сут. не достигал двух минимальных требуемых значений – 1642 в ИФА. Титры антител к вирусу ИБК в разведении 1:1 на 28 сут. наблюдения существенно превышали требуемый минимальный уровень. Отчётливо видны значительные различия в титрах антител между двумя группами птиц – контрольной (разведение 1:1) и опытной (разведение 1:4), это свидетельствует о том, что эти две группы принадлежат к различным статистическим совокупностям.

На рис. 4 очевиден постепенный рост титров антител к вирусу ИББ после вакцинации серонегативных птиц в течение всего срока наблюдения (28 сут.). Так, у контрольной группы (разведение вируса 1:1) через 14 сут. после иммунизации титр антител составил в ИФА 1380±203, через 21 сут. – 3965±244, и к 28 сут. вырос до 4893±376. У опытной группы птиц (разведение вируса 1:4) динамика образования антител была сходной: через 14 сут. после вакцинации титр антител к вирусу ИББ в ИФА составил 1120±154, через 21 сут. – 3058±212 и через 28 сут. – 5642±213. У обеих групп титр антител на 28 сут. значительно превосходил минимальное требуемое значение – 2810 в ИФА. Визуально можно отметить несущественную разницу в динамике антителообразования у опытной и контрольной групп птиц, и эти группы можно отнести к одной статистической последовательности.

На рис. 5 представлена динамика образования антител к вирусу РВТ у контрольной (разведение вируса 1:1) и опытной (разведение 1:4) групп серонегативных птиц в течение 28 сут. после вакцинации. На 14 сут. после иммунизации отмечался резкий рост титров антител к вирусу РВТ в ИФА относительно нулевых значений – у контрольной группы 1574±268 и у опытной группы 2544±874. На 21 сут. эти показатели выросли незначительно – до 1934±592 у контрольной группы и до 2915±1104 у опытной, а к 28 сут. эти значения установились в пределах 2544±374 и 2329±760, соответственно, что отвечает минимальному требуемому значению – 2150 в ИФА. Здесь также отмечается незначительная разница в уровне титров антител у обеих групп.

Анализируя все представленные на рис. 1-5 показатели, можно отметить, что динамика формирования и уровень гуморальных антител к антигенам вирусов ИББ, РВТ, НБ и ССЯ-76 у цыплят опытной и контрольной групп совпадали. Однако те же показатели к антигену вируса ИБК визуально отличались.

В результате проведенных статисти-

ческих расчетов было установлено, что для вирусов ИББ, РВТ, НБ и ССЯ-76 при сравнении препаратов с разной концентрацией соответствующих антигенов, различия между двумя вариационными рядами были несущественными (P>0,05) и принадлежали одной статистической совокупности. В то же время для вируса ИБК при сравнении препаратов с разной концентрацией антигена различия между двумя вариационными рядами были существенными (P<0,01), что свидетельствует об их принадлежности разным статистическим совокупностям.

Выводы

На основании проведенных исследований было определено, что показатели динамики формирования уровня гуморальных антител между опытной и контрольной группами цыплят для вирусов ИББ, РВТ, НБ и ССЯ-76 были сходными, что свидетельствует о достаточном антигенном запасе этих вирусов при пятикратном их разведении в составе ассоциированной инактивированной вакцины.

В то же время показатели динамики формирования гуморальных антител к вирусу ИБК в опытной и контрольной группах отличались, что свидетельствует о недостаточной антигенной активности этого вируса при его пятикратном разведении в составе инактивированной вакцины.

РЕЗЮМЕ

Были изготовлены экспериментальные образцы ассоциированных инактивированных вакцин против НБ, ИБК, ССЯ-76, ИББ и РВТ. В основном экспериментальном образце объёмное соотношение вирусов составляло 1:4, в эксперименте использовали образцы с соотношениями 1:6 для вирусов НБ и ССЯ-76 и образцы с соотношениями 1:1 для вирусов ИБК, ИББ и РВТ. Динамика антителообразования у групп серонегативных птиц, привитых соответствующими образцами, показала, что вирусы НБ, ССЯ-76, ИББ и РВТ обладают достаточным антигенным запасом даже при высоких разведениях, тогда как у вируса ИБК отмечалась недостаточная антигенная активность в разведении 1:4 в составе ассоциированной вакцины.

SUMMARY

Experimental samples of associated inactivated vaccines against ND, IB, EDS-76, IBD and reoviral infection were prepared. In general, the volume ratio of viruses in an experimental vaccine sample was 1:4. Also, vaccine samples with 1:6 NDV and EDS-76 virus volume ratio and vaccine samples with 1:1 IBV, IBDV and reovirus volume ratio were used for the experiment. The dynamics of antibody response in groups of seronegative chickens inoculated with corresponding vaccine samples demonstrated the sufficient antigenic activity of NDV, EDS-76 virus, IBDV and reovirus even at high dilutions while IBDV had low antigenic activity at 1:4 dilution in the associated vaccine formulation.

Литература

1. Ашмарин И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. Л.: Медицина, 1962. 179 с.
2. Дубовой, А.С. Ассоциированные инактивированные вакцины для профилактики вирусных болезней птиц / А.С. Дубовой // Материалы науч.-произв. конф., посвящ. 190-летию высшего вет. образования в России и 100-летию вет. науки: в 2-х т. СПб, 1998. Т. 1. С. 74-75.
3. Дубовой, А.С. Иммунитет у птицы, привитой поливалентной инактивированной эмульсинвакциной «Авикрон» / А.С. Дубовой, Э.Д. Джавадов, Ф.И. Полежаев //Ветеринария. 2004. №4. С. 13-14.
4. Ельников, В.В. Разработка технологии изготовления ассоциированной инактивированной вакцины против ньюкаслской болезни и реовирусного теносиновита птиц: автореф. дис. … канд. вет. наук / Ельников Василий Викторович. – Владимир, 2003. 26с.
5. Иммунитет у кур, привитых инактивированной ассоциированной вакциной / В.Н. Ирза, В.В. Борисов, А.В. Борисов [и др.] // Ветеринария. 2002. №4. С. 21-23.
6. Инактивированные вакцины – возможные варианты применения в промышленном птицеводстве / В.В. Борисов, А.В. Борисов, С.К. Старов [и др.] // Матер. конф. по птицеводству. Зеленоград, 2003. С. 208-209.
7. Рождественский, И.К. Опыт производства и применения комбинированных инактивированных противовирусных вакцин в птицеводстве / И.К. Рождественский, О.Ф. Хохлачёв // Матер. конф. по птицеводству. Зеленоград, 2003. С. 209-210.
8. Breytenbach, J.H. Correct and effective vaccination of poultry / J.H. Breytenbach //International Poultry Production. 2004. Vol. 12. N 4. P. 17, 19, 21.
9. Cegla, C. Untersuchungen zur Immunogenitaet eines inaktivierten, multivalenten IB/ND Oelemulsionsimpfstoffs in Legehybrid- und Mastelterntierherden / C. Cegla , D. Luetticken, E.F. Kaleta // DTW. 1986. Heft 93. S. 465-520.
10. Weigend, S. Application of a nonlinear regression function to evaluate the kinetics of antibody response to vaccines in chicken lines divergently selected for multitrait immune response / S. Weigend, N. Mielenz, S.J. Lamont // Poultry Sci. 1997. Vol. 76, N 9. P. 1248-1255.